

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1935

N° 6

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1935

PAR

Pierre FRANÇOIS

Né le 6 Mai 1911, à LUNEVILLE (Meurthe-et-Moselle)

De l'influence des sérums antimicrobiens
et antitoxiques spécifiques sur la culture
de certains microbes pathogènes.

JURY

Président : M. LEMIERRE, Professeur à la Faculté de Médecine.

Assesseurs : M. PANISSET
M. ROBIN.

} Professeurs à l'Ecole Nationale Vétéri-
naire d'Alfort.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1935

**De l'influence des sérums antimicrobiens et
antitoxiques spécifiques sur la culture de certains
microbes pathogènes.**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550425_0081

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1935

N° 6

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1935

PAR

Pierre FRANÇOIS

Né le 6 Mai 1911, à LUNEVILLE (Meurthe-et-Moselle)

De l'influence des sérums antimicrobiens
et antitoxiques spécifiques sur la culture
de certains microbes pathogènes.

JURY

Président : M. LEMIERRE, Professeur à la Faculté de Médecine.

Assesseurs : M. PANISSET
M. ROBIN.

Professeurs à l'Ecole Nationale Vétéri-
naire d'Alfort.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1935

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeur honoraire : M. H. VALLÉE, inspecteur général honoraire des services vétérinaires.

Professeurs honoraires . MM. G. BARRIER, inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires ; H. VALLÉE, DECHAMBRE, PETIT.

DIRECTEUR :

M. C. BRESSOU, directeur de l'Institut de Médecine Vétérinaire Exotique.

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

CHAIRRES

	MM.
1° Physique. Chimie et Toxicologie. Pharmacie. Inspection du lait.	N...
2° Anatomie descriptive systématique, topographique et appliquée des animaux domestiques. Tératologie	BRESSOU.
3° Physiologie. Thérapeutique générale.....	MAIGNON.
4° Agronomie et hygiène. Botanique et aliments du bétail. Matière médicale.....	SIMONNET.
5° Anatomie pathologique. Histologie. Embryologie. Technique des autopsies. Autopsies médico-légales. Inspection des viandes. Industrie et contrôle des autres produits animaux.....	VERGE.
6° Parasitologie et maladies parasitaires. Dermatologie et séméiologie de la peau. Zoologie appliquée. Clinique des maladies parasitaires et dermatologiques	HENRY.
7° Pathologie médicale. Séméiologie et Propédeutique. Jurisprudence vétérinaire. Médecine légale. Déontologie. Clinique médicale.....	ROBIN.
8° Pathologie chirurgicale. Séméiologie. Médecine opératoire et ferrure. Clinique chirurgicale.....	COQUOT.
9° Pathologie bovine, ovine, caprine et porcine ; maladies des animaux de basse-cour. Séméiologie. Médecine opératoire. Obstétrique. Clinique spéciale	LESBOUYRIÈS.
10° Pathologie générale. Maladies microbiennes et police sanitaire. Microbiologie. Clinique spéciale.....	PANISSET.
11° Zootechnie et appréciation des animaux domestiques, Economie rurale	LETARD.

AGRÉGÉS ET CHEFS DE TRAVAUX

MM. BERTHELON, BRION, CARPENTIER, VALADE, GORET, MONVOISIN, MOUSSU.

AGRÉGÉS CHARGÉS D'ENSEIGNEMENT

MM. CORDIER et THIEULIN.

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



A MA MÈRE, A MON PÈRE

Faible témoignage de mon profond
amour filial et de ma reconnaissance
infinie.

A MES FRÈRES

En gage d'affection.

A TOUS MES CAMARADES D'ÉTUDES ET AMIS

Je dédie ce modeste travail.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LEMIERRE

de la Faculté de Médecine de Paris

Médecin des Hôpitaux

Chevalier de la Légion d'Honneur ..

Hommage de respectueuse gratitude
pour le grand honneur qu'il nous a
fait en acceptant de présider notre
Jury.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PANISSET

Chevalier de la Légion d'Honneur

Auditeur au Conseil Supérieur d'Hygiène de France

Pour le remercier de la bienveillance
avec laquelle il nous a toujours traité.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROBIN

Chevalier de la Légion d'Honneur

Que nous remercions d'avoir bien
voulu faire partie du Jury de notre
thèse.

A MES MAITRES DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE

D'ALFORT

A MES MAITRES DE L'ECOLE DE CAVALERIE DE SAUMUR

De l'influence des sérums antimicrobiens et antitoxiques spécifiques sur la culture de certains microbes pathogènes.

INTRODUCTION

Un organisme sain, attaqué par un microbe, réagit en mettant en jeu les moyens de défense que possède son organisme; ceux-ci dépendent de deux grands facteurs: les leucocytes et les humeurs. Dans l'établissement de l'immunité, il revient à chacun d'eux une part qu'il est bon de mettre en évidence. Au début de la science de l'immunologie, on a tenté d'expliquer l'immunité par l'un de ces facteurs à l'exclusion de l'autre, et deux grandes théories furent en présence: la théorie leucocytaire et la théorie humorale.

METCHNIKOFF est le créateur de la théorie leucocytaire; il considère la phagocytose leucocytaire comme un processus de défense contre l'infection. Dès qu'il y a infection, il y a *inflammation*, c'est-à-dire afflux de leucocytes au niveau de la pénétration du parasite et BURNET a pu dire: « l'inflammation est essentiellement la phagocytose et la phagocytose se ramène à une digestion intracellulaire ». De là sa conception de l'immunité comme un phénomène de digestion par les leucocytes.

Un peu plus tard, BUCHNER édifiait sa théorie humorale. Selon lui, les humeurs seules conditionnent l'immunité sans intervention des leucocytes de par l'action pure et simple d'une substance mal connue, présente dans le sérum qui n'a pas été chauffé à plus de 55°, l'alexine.

Cette conception était donc nettement opposée à la théorie leucocytaire.

Mais en fait, après bien des discussions, on est arrivé à cette conclusion que les humeurs et les leucocytes ont chacun leur part, plus ou moins importante selon les cas, dans l'établissement de l'immunité.

Au laboratoire, en dehors de l'organisme même, avec des matériaux inertes issus de la matière vivante, nous ne pouvons pas toujours conclure que les phénomènes observés « *in vitro* » peuvent être transportés dans le domaine du vivant. Le savant est toujours réduit aux hypothèses tant les faits observés sont paradoxaux; ainsi sait-on que le sérum normal ne constitue à l'état frais et pur qu'un mauvais milieu de culture pour tous les microbes, mais que toutefois, additionné en proportion convenable aux milieux de culture usuels, il aide au développement des germes. Mieux encore, dans certaines circonstances, un sérum anti qui fait disparaître un microbe « *in vivo* » permet le développement de celui-ci « *in vitro* ». Cette action favorisante de l'immun-sérum spécifique a été remarquée pour de nombreuses espèces microbiennes, et on a même constaté qu'il y a vraiment augmentation des germes par rapport aux autres milieux de culture. Reprenant la question, nous avons entrepris dans ce modeste travail, l'étude comparée de la culture de certains microbes pathogènes sur les sérums normaux et sur les sérums anti ajoutés aux milieux de culture usuels.

Nos expériences ont porté en particulier sur le streptocoque gourmeux et sur la toxine du bacille de PREISZ-NOCARD.

Nous avons adopté le plan suivant:

Première partie: Culture des microbes pathogènes sur les sérums immunisants.

Deuxième partie : Résultats généraux : augmentation des corps microbiens de la culture en bouillon-sérum-anti. Hypothèses sur les causes du phénomène.

Troisième partie: Expériences personnelles.

Conclusions.

M. le Docteur P. GORET, chef de travaux à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, nous a donné l'idée de ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre plus vive gratitude pour ses conseils et sa bienveillante sollicitude.

M. le Vétérinaire capitaine GUILLOT nous a prodigué constamment ses conseils et nous a fortement aidé dans la réalisation de nos expériences; nous lui en gardons une indéfectible reconnaissance.

Nos remerciements iront également à M. le Vétérinaire-commandant CARPENTIER, Directeur du Laboratoire Militaire de Recherches Vétérinaires, qui a mis à notre disposition toutes les ressources de son laboratoire et nous a permis de réaliser la plupart de nos expériences.

M. le Professeur PANISSET nous a fait le grand honneur de nous accueillir à son laboratoire; qu'il nous soit permis de lui exprimer ici nos remerciements les plus sincères.

PREMIERE PARTIE

CULTURE DES MICROBES PATHOGENES SUR LES ANTI-SERUMS

On sait depuis longtemps qu'il n'y a aucun parallélisme entre la résistance d'un animal à une infection et le pouvoir bactéricide de son sérum sur l'agent de cette infection. Bien plus, certains sérums antimicrobiens préparés par hyperimmunisation n'agissent nullement par action directe sur le microbe antigène.

Voges étudiant le mode d'action *in vitro* du sérum préventif contre le rouget du porc, parle d'un faible pouvoir bactéricide; il faut, dit-il dans son mémoire, ensemercer assez abondamment pour avoir une culture dans du sérum (lapin ou mouton) immunisant. Avec Schutz, il déclare en 1898 qu'il faut ensemercer plusieurs anses de platine de virus, dans 1 cc. de sérum de mouton, pour obtenir une culture. Mais Voges et Schutz sont bien obligés de reconnaître que le sérum n'a qu'un très faible pouvoir bactéricide et, pour faire admettre leur théorie d'une action bactéricide dans le corps des animaux immunisés activement ou passivement, ils doivent recourir à des hypothèses; ils prétendent que le sérum immunisant n'agit que sur le *corps protoplasmique* de la bactérie alors qu'elle est débarrassée de son enveloppe protectrice. Celle-ci qui confère à la bactérie sa résistance à la chaleur, à la dessiccation, au sérum préventif *in vitro*.

et sa propriété de ne pas se décolorer après l'action du liquide de GRAM, est détruite par une énigmatique action physiologique de certains organes, et alors le pouvoir bactéricide des « antikörper » contenus dans le sérum préventif peut se manifester.

MESNIL, en 1898, à propos du sérum immunisant de lapin (le seul qu'il ait préparé, dit-il) écrit que ses expériences prouvent que le pouvoir bactéricide *in vitro* peut être considéré comme nul. « Un centimètre cube de sérum frais (retiré l'avant-veille), ensemencé avec une anse de culture de rouget dans notre bouillon, donne le lendemain une très abondante culture, aussi abondante que le sérum de lapin neuf, ou même le bouillon peptonisé à la panse de porc. Les microbes qui ont poussé se colorent bien et on ne rencontre pas de formes dégénérées. » L'auteur prouve par une autre expérience que le développement n'est pas arrêté dans les premières heures qui suivent l'ensemencement. Sur trois lamelles, il dépose trois gouttes de sérum frais très actif; il ensemence la première avec une anse (de platine) de culture en bouillon en rendant le mélange très homogène; la deuxième, avec une anse de la première goutte, puis la troisième goutte avec une anse de la troisième. Il obtient ainsi, dans la troisième goutte, une dilution très faible de virus dans le sérum. Il observe au microscope les trois lamelles disposées en gouttes pendantes; la culture s'affirme au bout de deux à trois heures, même dans la troisième goutte; au bout de 24 heures, il obtient trois belles cultures. Il en conclut que « *in vitro*, le sérum des lapins immunisés contre le rouget a un pouvoir bactéricide nul ou insignifiant. En réalité ce sérum constitue un excellent milieu de culture pour le bacille du rouget ».

MESNIL remarque encore qu'aucun des savants qui ont étudié le sérum contre le rouget n'a examiné son pouvoir agglutinant. Les premiers observateurs qui ont noté le phénomène de la culture en amas dans le fond des tubes, CHARRIN et ROGER, METCHNIKOFF, avaient remarqué que cette particularité culturale ne

se produisait que dans le sérum des animaux immunisés et pas dans celui des animaux neufs.

MESNIL écrit qu'il n'en est pas ainsi pour le bacille du rouget. En effet, ce germe pousse en amas dans le sérum de lapin neuf pur, ou additionné de une, deux, et même cinq fois son volume de bouillon; à la dilution de 1/10 le sérum n'a plus d'action, la culture présente un trouble uniforme. Le sérum des lapins neufs a donc un pouvoir agglutinant sur le bacille du rouget à l'état naissant, mais seulement à un taux de dilution peu élevé. Il en est de même du sérum de cheval. Si on colore les amas, on reconnaît que les microbes se colorent bien, mais ils sont en articles isolés ou par chaînes de deux ou trois, comme dans les cultures non agglutinées. « *La croissance des microbes en longues chaînes reste donc caractéristique des cultures contenant du sérum de lapins vaccinés.* »

L'auteur ajoute que *in vitro*, le sérum contre le rouget n'est pas bactéricide, qu'il est doué de propriétés agglutinantes manifestes, et à des taux de dilution très élevés; les bacilles dans le sérum immunisant croissent en chaînes d'un grand nombre d'articles; les microbes agglutinés n'ont rien perdu de leur virulence, et enfin, le sérum est un stimulant des cellules chargées de la défense de l'organisme.

BRIDRÉ et JOUAN entreprennent en 1914 des expériences sur le mode d'action de certains sérums. Ils constatent, en ce qui concerne le sérum anti-rouget, que le sérum des chevaux hyperimmunisés, obtenu d'une saignée pratiquée 12 jours après la dernière inoculation, peut renfermer des bacilles vivants et virulents; et le sérum de cheval hyperimmunisé est plus favorable à la culture du bacille du rouget que le sérum de cheval neuf. Ils citent une expérience qui permet de se rendre compte des effets de l'adjonction, au bouillon de culture, de l'un ou l'autre sérum: on enseme en même temps dans le bouillon de culture des volumes égaux des milieux suivants: bouillon peptoné ordinaire, même bouillon avec 1/10 de sérum préparé. Après 48 heures, les cultures sont

centrifugées dans des tubes dont la partie inférieure cylindrique est étroite et graduée finement, de façon à permettre une mesure approximative des dépôts. « La richesse des cultures obtenues, mesurée en prenant celle du bouillon comme unité, serait de 8 pour le bouillon au sérum normal, et de 50 pour le bouillon au sérum spécifique. »

NICOLLE et CÉSARI, en 1926, étudient cette action favorisante de l'immun-sérum spécifique sur une échelle plus étendue et observent que le même phénomène se vérifie pour de nombreuses espèces microbiennes. Leurs expériences ont porté sur les microbes suivants : bactériidie charbonneuse (souches des premier et deuxième vaccins de l'Institut Pasteur et échantillons virulents), gonocoque, bacille diphtérique, tétanos, pneumocoque (échantillons des types I, II, III), bacille typhique et paratyphique A. Ils ont cultivé chacun de ces germes en même temps dans une série de milieux préparés avec le sérum de cheval normal et les divers antisérums correspondants aux germes antigènes énumérés ci-dessus. « *Pour tous les microbes étudiés, la culture obtenue dans le milieu contenant l'antisérum spécifique homologue, a été plus abondante que les cultures réalisées dans les milieux renfermant les autres antisérums ou le sérum normal de cheval.* »

Ils constatent que la richesse du développement dans le bouillon contenant l'immun-sérum homologue, était surtout manifeste par rapport aux autres milieux, dans les essais effectués avec la bactériidie charbonneuse (vaccin et souche virulente), le bacille diphtérique, le bacille du tétanos, le bacille typhique et le paratyphique A. En ce qui concerne le gonocoque, cette particularité était moins facilement appréciable objectivement que dans les exemples précédents; elle ressortait néanmoins avec netteté de la comparaison des récoltes effectuées après centrifugation et dessiccation des corps microbiens. La culture faite dans le milieu contenant l'immun-sérum offre d'autre part des caractères qui marquent la spécificité

du phénomène, disent-ils. On sait que certains microbes poussent agglutinés d'emblée dans les milieux liquides auxquels on a incorporé une quantité suffisante de l'antisérum spécifique. NICOLLE et CÉSARI ajoutent que, dans leurs expériences, les trois types de pneumocoques ont fourni chacun dans le bouillon additionné du sérum antipneumococcique du type antigène qui lui correspondait (et non avec les antisérums des deux types voisins) « des cultures constituées par une membrane tellement cohérente que l'agitation ne parvenait pas à la dissocier tandis que le liquide surnageant demeurait tout à fait limpide ». C'était également le cas pour le bacille typhique et le paratyphique A; mais ici « en raison de la communauté de certains éléments antigènes appartenant à ces deux espèces microbiennes, l'agglutination à l'état naissant se manifestait à la fois dans le milieu renfermant le sérum antityphique et dans celui contenant le sérum antiparatyphique A ».

Pour les deux espèces microbiennes, dans les deux tubes possédant les antisérums leur correspondant, la culture se faisait sous forme de grumeaux avec apparition secondaire d'un voile à la surface du liquide. Toutefois l'abondance du dépôt formé par la sédimentation des grumeaux et l'épaisseur du voile superficiel étaient beaucoup plus considérables pour un microbe comme pour l'autre dans le tube contenant son propre antisérum. La culture de la bactérie charbonneuse dans le milieu additionné de sérum anticharbonneux était caractérisée par la « formation d'un dépôt floconneux extraordinairement abondant laissant le bouillon parfaitement clair. Avec les deux souches atténuées, une collerette adhérent aux parois du tube apparaissait secondairement à la surface du liquide. La souche virulente formait un voile épais, continu, cohérent, que l'agitation rompait en larges bandeaux et qui se reconstituait ensuite. Cette particularité est d'autant plus intéressante à enregistrer que le sérum anticharbonneux ne manifeste, on le sait, vis-à-vis de la bactérie, aucune propriété ag-

glutinante appréciable par les méthodes usuelles. »

Dans le bouillon renfermant le sérum antitétanique, le bacille du tétanos a fourni aussi un dépôt floconneux abondant contrastant avec les cultures obtenues dans les autres milieux.

L'action favorisante du sérum antidiphtérique sur le développement du bacille de LÖEFFLER s'est traduite par l'apparition hâtive d'un voile très épais couvrant toute la surface du liquide ainsi que par l'abondance du dépôt microbien.

L'effet du sérum antigonococcique sur la culture du gonocoque s'est manifesté par la formation d' « un voile épais devenu complet en quelques jours, tandis que le voile demeurerait ténu et fragmentaire dans les milieux renfermant le sérum normal ou les antisérums hétérologues ».

P. GORET (1931) a fait une série d'expériences avec divers microbes pathogènes. Pour le bacille du rouget, il constate que, sur du bouillon-sérum antirouget, les meilleures cultures observées le furent sur bouillon-sérum à parties égales. La culture est bien supérieure à celle obtenue sur bouillon-sérum frais de cheval. Donc, comme l'ont déjà remarqué MESNIL, BRIDRÉ et JOUAN, le sérum antirouget exerce une action favorisante très nette sur la culture du bacille. Expérimentant avec la bactériémie charbonneuse, GORET conclut: « le développement, incontestablement de beaucoup le meilleur, est celui obtenu sur bouillon-sérum anticharbonneux à parties égales ».

Etudiant plus loin l'action du sérum antidiphtérique sur le développement du bacille de PREISZ-NOCARD, il constate que, dans les milieux constitués par le mélange bouillon-sérum antidiphtérique, on obtient un très joli voile et que la culture est plus abondante en bouillon-sérum antidiphtérique à parties égales que dans le même mélange au tiers; il résume dans le tableau suivant, les valeurs comparées, estimées à l'œil, du développement du bacille dans les différents milieux, au bout du quatrième jour de culture:

Bouillon de veau peptoné.....	5
Sérum frais	1
Sérum dilué.....	2
Bouillon-sérum à parties égales.....	5
Bouillon-sérum antidiphthérique à parties égales	7
Bouillon-sérum antidiphthérique + sérum frais.....	4

et conclut: « le sérum antidiphthérique exerce donc une action favorisante nette sur le développement du bacille de PREISZ-NOCARD ».

A propos du bacille dysentérique de SHIGA, il fait remarquer que la plus belle culture est obtenue avec le milieu bouillon-sérum antidysentérique au tiers et que l'action favorisante du sérum antidysentérique sur le bacille de SHIGA n'est pas niable. Pour le streptocoque, la meilleure culture a été obtenue sur bouillon-sérum antistreptococcique. L'auteur conclut : « Pour tous les germes étudiés, sauf toutefois les anaérobies, l'immun-sérum spécifique ajouté au bouillon exerce une action favorisante sur le germe spécifique. L'immun-sérum hétérologue semble exercer également une action favorisante sur le germe le plus voisin de celui ayant produit cet immun-sérum. L'action favorisante d'un immun-sérum antitoxique sur le microbe produisant le poison est également nette (sauf toujours pour les anaérobies) ». L'auteur fait remarquer de plus que l'alexine semble ne pas avoir d'action inhibitrice sur le développement des germes en milieu contenant l'immun-sérum spécifique, et que, mieux, elle semble parfois avoir une action favorisante. D'après lui, les microbes anaérobies semblent être plutôt favorisés dans leur développement par des immun-sérums hétérologues voisins.

L'addition au bouillon de culture usuel, de sérum immunisant spécifique antimicrobien ou antitoxique d'un microbe pathogène *aérobie*, a toujours très nettement favorisé la culture du microbe spécifique ou d'un germe voisin; « le développement était visiblement inférieur quand le sérum ajouté au bouillon ordinaire était du sérum normal ou un sérum immunisant non spécifique ».

DEUXIEME PARTIE

RESULTATS GENERAUX : AUGMENTATION DES CORPS MICRO- BIENS DE LA CULTURE EN BOUILLON SERUM ANTI. HYPOTHESES SUR LES CAUSES DU PHENOMENE.

BRIDRÉ et JOUAN constatent l'action favorisante de l'addition de sérum antirouget à la culture du bacille du rouget; ils l'expliquent par ce fait que l'hyperimmunisation des chevaux est obtenue par l'inoculation de cultures en bouillon; dans ce milieu, le développement est faible, arrêté probablement par un produit nuisible dérivé du microbe; en inoculant la culture totale on provoquerait la formation d'un anticorps de ce produit spécial, et le sérum préparé, en neutralisant par cet anticorps la substance empêchante, agirait dans le milieu.

NICOLLE et CÉSARI, étudiant le phénomène comparativement aux autres milieux de culture, ont vu qu'il y avait effectivement accroissement numérique des microbes dans le bouillon contenant l'antisérum homologue. Ils en ont donné une explication différente de celle envisagée par BRIDRÉ et JOUAN. L'anticorps provoque l'entraînement des substances indifférentes du sérum, à la surface des germes, ce qui est montré par l'agglutination parfois réelle, parfois virtuelle, des microbes; ce fait, pour les auteurs, peut avoir une action favorable sur la nutrition des élé-

ments microbiens, donc sur leur multiplication, en mettant à leur portée les matières nutritives du milieu; ils supposent également que l'antisérum spécifique contenant des produits résultant de la désintégration, chez l'animal fournisseur, des microbes antigènes introduits au cours du traitement immunisant, apporte au milieu de culture, des matériaux particulièrement propices à l'alimentation des germes correspondants. Sur un support nutritif solide, cette action favorisante ne se manifeste pas. Les auteurs proposent de mettre à profit le phénomène en l'utilisant comme procédé de titrage « *in vitro* » des antisérums au moins à l'égard de ceux ne révélant nulle trace de sensibilisatrices par les méthodes ordinaires, et envisagent l'hypothèse de la culture visible de virus filtrants dans les immun-sérums.

Si le rôle favorisant appartient aux anticorps, c'est probablement aux coagulines qu'il est dû, car nous pouvons remarquer, à la suite des expériences citées plus haut, que l'action favorisante la plus nette est observée avec les sérums antirouget et anticharbonneux, lesquels ne contiennent pas de sensibilisatrices, décelables tout au moins. A ce propos, nous voyons que le phénomène d'agglutination est bien loin de représenter un « effet utile » de la réaction antigène-anticorps. Dans les autres sérums qui contiennent des sensibilisatrices, celles-ci n'exercent à elles seules aucune action inhibitrice sur les germes « *in vitro* ». Si on ajoute de l'alexine, on s'aperçoit vite (à supposer qu'il existe toujours) que l'effet utile « *in vitro* » de la fixation de l'alexine ne s'exerce certainement que sur un petit nombre de germes; les germes non atteints cultivent dans le mélange alexine-immun-sérum. D'où la difficulté des méthodes permettant de titrer le pouvoir bactéricide des immun-sérums « *in vitro* ».

Ce qui vient confirmer l'action favorisante des antisérums spécifiques sur le germe pathogène correspondant, c'est l'influence de ces antisérums sur le pouvoir chromogène des microbes, sur lequel АМАКО

(1930) insistait. « La propriété chromogène, conclut-il, et l'action réductrice des composés sodiques du tellure et du sélénium des cultures microbiennes renfermant des immun-sérums, sont beaucoup plus marquées que celles du sérum normal renfermant des cultures microbiennes ou de ces mêmes cultures en bouillon... Pour l'augmentation du pouvoir chromogène, l'action favorable à la réduction des sels de sodium, des acides tellurique et sélénique, l'action empêchante sur la réduction du bleu de méthylène et la formation de méthémoglobine, il s'agit d'une intervention spécifique de l'immun-sérum. Ces résultats ne peuvent pas être obtenus avec les sérums immunisants non spécifiques. Si les anticorps spécifiques du sérum immunisant sont absorbés par la méthode de CUSTELLANI, le sérum anti ne produit pas ces effets. Ces modes d'action particuliers dépendent d'une combinaison des corps immunisants spécifiques avec les bactéries spécifiques. »

La vitalité du microbe est donc bien augmentée sous l'influence de l'antisérum spécifique, telle est la conclusion que nous pouvons tirer de ces expériences.

Enfin, l'augmentation des corps microbiens de la culture en bouillon-sérum anti peut être expliquée par l'intervention de causes chimiques; il y a un rapport entre l'augmentation des corps microbiens et la constitution de l'élément surajouté au bouillon, le sérum en l'occurrence. Celui-ci apporterait au bouillon nutritif des éléments vitaminés (c'est une simple hypothèse) et albumineux (comme par exemple le liquide d'ascite) qui augmenteraient la culture.

TROISIEME PARTIE

EXPERIENCES PERSONNELLES

Première série d'expériences

Notre première série d'expériences a porté sur le streptocoque gourmeux; nous avons utilisé un sérum antigourmeux d'origine connue; ce sérum est préparé par le Laboratoire Militaire de Recherches selon la technique suivante: séries d'injections intraveineuses quotidiennes à des doses croissantes de streptocoque gourmeux alcool-éther; puis association d'injections intraveineuses d'émulsion de cultures de streptocoques sur gélose (d'abord tuées par la chaleur, puis vivantes). Nous avons titré pour chacune de nos expériences la richesse de ce sérum en anticorps (sensibilisatrices); ce sérum a été additionné à du bouillon MARTIN dans la proportion d'un tiers. Nous avons ensemencé sur ce milieu diverses souches de streptocoques gourmeux ayant servi à préparer ce sérum antigourmeux. Après 24 heures d'étuve, les cultures ainsi obtenues sont réensemencées sur gélose en boîtes de PETRI (dans des proportions convenables). Les colonies sur boîtes de PETRI sont dénombrées après 24 et 48 heures d'étuve.

Les mêmes expériences ont été répétées avec des cultures de streptocoques gourmeux sur bouillon MARTIN additionné de sérum normal de cheval, et avec des souches n'ayant pas servi à préparer le sérum antigourmeux.

Notre but était double:

1° Rechercher s'il y avait spécificité dans la production plus considérable des germes.

2° Rechercher s'il y avait une relation entre la richesse du sérum en anticorps et le nombre des colonies en boîtes de PETRI. Nous avons titré le taux des sensibilisatrices du sérum antigourmeux en utilisant la méthode de fixation du complément. La technique suivie a été celle de BESREDKA en suivant les données préconisées par A. URBAIN.

Nous rappellerons brièvement le *principe de la réaction de BORDET-GENGOU*.

Si au mélange de l'antigène et d'une sensibilisatrice, on ajoute du sérum frais normal contenant par conséquent de l'alexine, ou complément, ce complément se fixe sur l'antigène grâce à la sensibilisatrice et à la condition que celle-ci soit spécifique pour l'antigène considéré; il disparaît donc du milieu. C'est la fixation du complément. Mais pour savoir si le complément est réellement fixé, une autre opération est nécessaire. Elle consiste à ajouter au mélange précédent une émulsion de globules rouges de mouton, par exemple, additionnée de sérum d'un animal préparé par des injections de globules rouges de mouton, sérum dit hémolytique, qui a été au préalable chauffé à 56°, de manière à détruire le complément; par suite le sérum hémolytique ne contient plus que la sensibilisatrice. En supposant que le complément apporté par le sérum frais ait bien été fixé au moment du premier mélange, ce complément n'est plus maintenant libre pour utiliser la sensibilisatrice antimouton, pour se fixer, grâce à cette dernière, sur les globules rouges de mouton, et les dissoudre; l'hémolyse ne se produit pas. La réaction dans ce cas est dite positive et démontre la présence de la sensibilisatrice dans le premier mélange. Telle est la déviation du complément qui permet de savoir, un antigène étant donné, si le sérum examiné renferme bien la sensibilisatrice correspondante, et, une sensibilisatrice spécifique étant donnée, si l'antigène correspondant existe.

Reprenons le principe plus en détail; réalisons séparément les deux mélanges suivants:

Mélange A: Hématies de mouton débarrassés de

leur sérum. Sérum de lapin antimouton chauffé à 56°.

Mélange B: Emulsion de bacilles typhiques, — sérum antityphique chauffé à 56°, — sérum frais de cobaye.

Puis mélangeons A et B. L'hémolyse ne se produit pas. Réalisons la même expérience avec deux mélanges A et B', B' différant de B par la substitution de sérum anticholérique au sérum antityphique. On observe alors l'hémolyse.

L'interprétation des faits est la suivante:

1° Dans le *mélange A* (qui constitue ce que l'on appelle un « système hémolytique »), les hématies ont fixé l'anticorps hémolytique; il suffira donc d'un apport d'alexine pour déclancher l'hémolyse.

2° Dans le *mélange B* coexistent: l'antigène typhique, — la sensibilisatrice antityphique, — l'alexine; l'anticorps est fixé électivement sur l'antigène, lequel est par suite « sensibilisé »; l'alexine est alors en condition d'agir: elle se fixe à son tour sur le complexe antigène-anticorps et, pour des propriétés convenables des éléments entrant dans le mélange, on conçoit qu'après un certain temps de contact, il ne reste plus d'alexine disponible.

3° Par suite, dans le *mélange A + B*, l'hémolyse ne devra pas se manifester, puisque l'alexine du mélange est immobilisée, « déviée », donc incapable d'agir.

4° Dans le *mélange B'*, la sensibilisatrice anticholérique ne se fixant pas, en raison de sa spécificité, sur l'antigène typhique, l'alexine reste inemployée, et par suite, disponible.

5° On devra par conséquent observer l'hémolyse dans le *mélange A + B'*.

Technique de la réaction par le procédé de Besredka

PREMIER TEMPS: PRÉPARATION DES MÉLANGES B

Préparation des tubes de contrôle sérum, antigène et alexine.

Le tableau ci-dessous (tableau I) rend compte des opérations à effectuer lors de ce premier temps. Les tubes 1 à 6 constituent une série de *mélanges B* ne différant entre eux que par la dose d'alexine.

DEUXIÈME TEMPS: TITRAGE DU SÉRUM HÉMOLYTIQUE
ET PRÉPARATION DU SYSTÈME HÉMOLYTIQUE

a) *Titration du sérum hémolytique.*

On sensibilise d'abord une quantité fixe d'hématies (10 cc. de l'émulsion diluée à 1 p. 20) par des quantités variables de sérum hémolytique (0 cc. 10; 0 cc. 15; 0 cc. 20); la sensibilisation est obtenue par un contact de 10 à 20 minutes à la température du laboratoire; on verse ensuite 1 cc. de chaque mélange (voir tableau II, tubes [I], [II], [III]) dans chacun des deux petits tubes correspondants (même tableau) qui contiennent de l'alexine. Il est bon d'ajouter de l'antigène car il a parfois le pouvoir de fixer *directement* l'alexine.

On porte alors les six petits tubes à l'étuve à 37° pendant une demi-heure. Supposons que l'hémolyse soit incomplète ou nulle dans les tubes 1' et 1'', totale dans les autres; on en conclura que 0 cc. 15 est la dose minima de sérum hémolytique assurant la sensibilisation des globules. Si l'hémolyse n'est complète qu'à partir du tube 2'', on prendra 0 cc. 20 comme dose minima de sérum hémolytique.

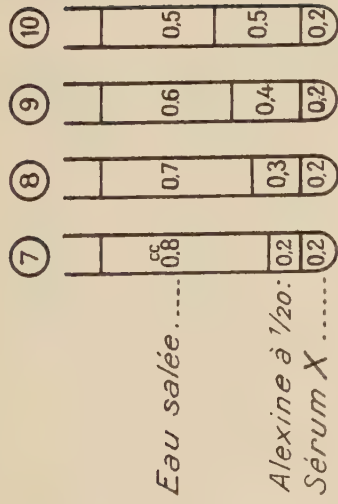
b) *Préparation du système hémolytique.*

On prépare, en quantité suffisante, les globules sensibilisés nécessaires aux réactions, sachant qu'il en faudra 1 cc. pour chacun des tubes du premier tableau.

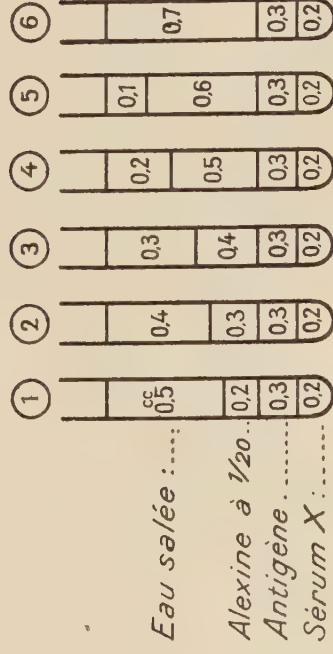
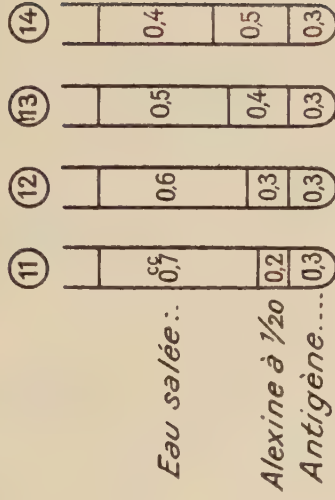
TROISIÈME TEMPS: RÉACTION PROPREMENT DITE
ET RÉACTIONS DE CONTRÔLE

Chacun des tubes préparés au premier temps reçoit alors 1 cc. du système hémolytique; on les remet ensuite à l'étuve à 37° pour une demi-heure.

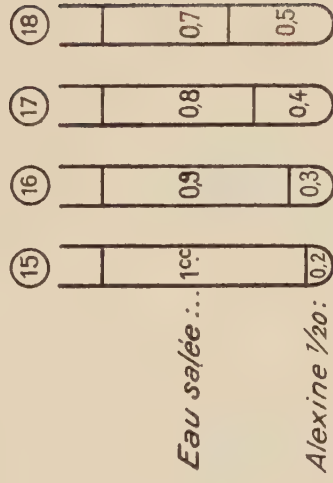
Contrôle-sérum



Contrôle-antigène



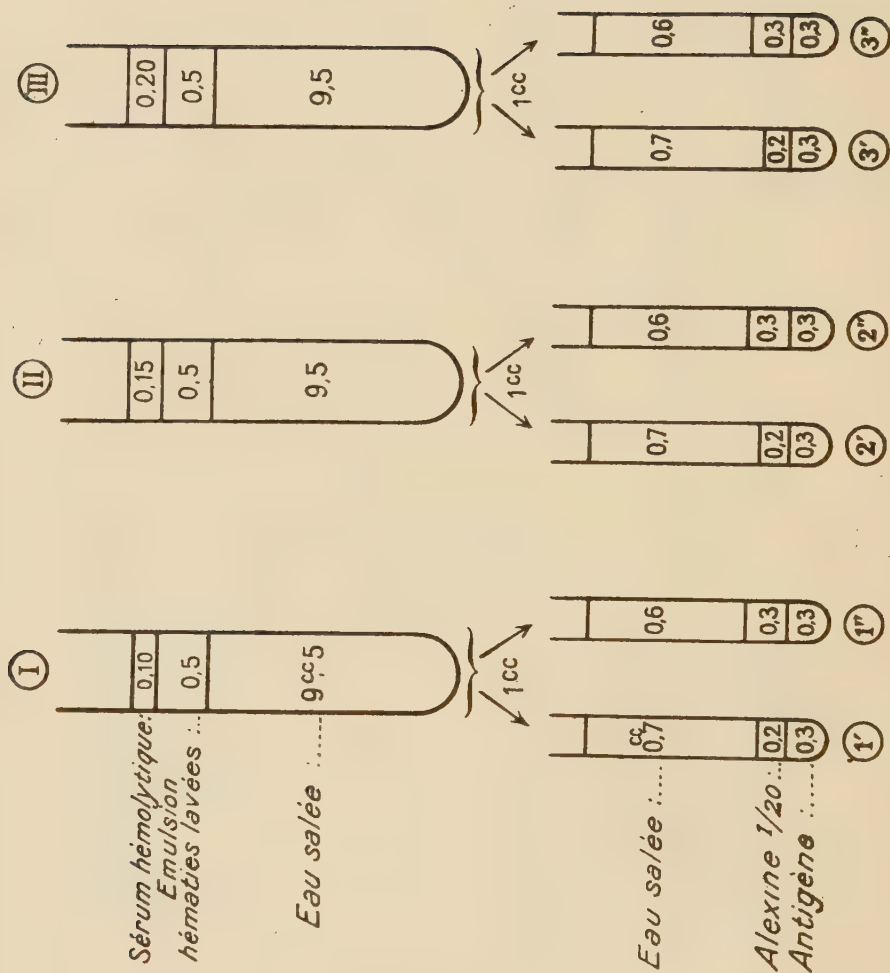
Tubes de réaction



Contrôle-alexine

TABEAU I

TABEAU II



QUATRIÈME TEMPS: LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

(Se reporter au tableau I, sans perdre de vue que chacun des tubes a reçu en outre 1 cc. de système hémolytique.)

a) *Tubes de réaction proprement dite (1 à 6).*

La réaction est négative si tous les tubes sont trouvés hémolysés. On fait intervenir les tubes de contrôle lorsqu'il y a absence d'hémolyse dans un ou plusieurs tubes de la série.

b) *Tubes-témoins sérum X (7 à 10).*

S'il n'y a pas hémolyse, par exemple dans les tubes 7 et 8, on en conclura que le sérum X a fixé directement une partie de l'alexine, car les doses d'alexine contenues dans les tubes sont égales ou supérieures à la dose minima permettant l'hémolyse totale.

c) *Tubes-témoins antigène (11 à 14).*

Sauf pouvoir complémentaire appréciable de l'antigène, tous ces tubes doivent être hémolysés. En cas d'absence d'hémolyse dans un ou plusieurs tubes de cette série, on négligerait un nombre égal de tubes de réaction.

d) *Tubes-témoins alexine (15 à 18).*

Tous doivent hémolyser.

En pratique, M étant la somme des tubes non hémolysés dans les séries de contrôle, la réaction sera dite (N étant le nombre de tubes 1 à 6):

Douteuse	si	$N - M = 1$
Faiblement positive....	si	$N - M = 2$
Positive	si	$N - M = 3$
Fortement positive	si	$N - M > 3$

Nous avons adopté la méthode de titrage d'A. URBAIN, chaque tube non hémolysé correspondant à 5 unités d'anticorps.

Antigène

Pour nos réactions de fixation du complément, nous avons utilisé comme antigène une émulsion de streptocoques gourmeux tués par l'alcool-éther ; c'était soit un stock-antigène (constitué par de nombreuses souches de streptocoques gourmeux), soit un antigène constitué par une seule souche déterminée de streptocoque.

Le stock-antigène est préparé selon la technique suivante préconisée par A. URBAIN :

« Les bactéries cultivées sur milieux solides, sont émulsionnées en eau physiologique, afin de les collecter. On centrifuge, puis on délaie les culots avec un excès d'alcool ; on ajoute une partie égale d'éther et on laisse agir pendant 24 heures. On décante ensuite le liquide surnageant et le sédiment est mis à dessécher, sous le vide sulfurique à 37°.

Les bactéries cultivées en milieux liquides sont réunies par centrifugation. On opère, sur les culots, comme précédemment. Les germes secs sont broyés en les agitant mécaniquement avec des billes de bronze, dans des tubes de cuivre nickelé. La poudre ainsi obtenue conserve indéfiniment sa valeur antigène, à la condition d'être mise à l'abri de l'humidité. Pour obtenir l'antigène nécessaire à une réaction de fixation, on émulsionne cette poudre dans de l'eau physiologique à 9 p. 1000, à raison de 1 centigramme de corps microbiens pour 20 centimètres cubes d'eau physiologique. Pour avoir une émulsion très homogène, il est indispensable de la faire dans un ballon muni de perles de verre de différentes grosseurs. En agitant pendant quelques minutes le poids de microbes secs nécessaires avec quelques centimètres cubes d'eau physiologique, et en complétant ensuite au taux voulu, on obtient une suspension microbienne d'aspect colloïdal. Il y a lieu de remarquer qu'il faut environ 6 à 7 grammes de germes frais pour avoir 1 gramme de microbes alcool-éther secs ; l'émulsion que l'on utilise est donc 6-7 fois plus riche en ger-

mes que l'antigène constitué de microbes à l'état frais... »

Comme *autres antigènes*, nous avons utilisé des streptocoques gourmeux provenant de plusieurs chevaux (Eponge, — Provins, — Suippes, — Dinan, etc., fournis par le Laboratoire Militaire de Recherches Vétérinaires) et tués par l'alcool-éther.

La technique de préparation est analogue à la précédente. Il suffit d'ensemencer 3 à 4 tubes de bouillon-sérum avec le streptocoque à utiliser; après 48 heures d'étuve, ces cultures sont centrifugées, lavées, puis recentrifugées. Le culot de centrifugation est traité par l'alcool, puis par une quantité égale d'éther. Après 24 heures d'évaporation à l'air libre, l'alcool-éther surnageant est aspiré et les germes sont desséchés sous le vide sulfurique. L'émulsion est préparée en diluant la poudre ainsi obtenue (un centigramme pour 20 cc. d'eau physiologique).

Expériences

I. SÉRUM « SALMETTE » (saignée du 13-11-33). Cette jument a reçu dans la veine, d'une part du streptocoque alcool-éther, d'autre part une émulsion de culture sur tube de gélose du streptocoque « Provins » et du streptocoque « Eponge » (tués par la chaleur).

Réaction de déviation du complément, le 5-12-33.

Avec les trois antigènes suivants:

- | | |
|--|-----------|
| 1° Streptocoques alcool-éther (stock-antigène).... | 20 unités |
| 2° Streptocoque « Eponge » (alcool-éther)..... | 5 unités |
| 3° Streptocoque « Provins » (alcool-éther)..... | 25 unités |

Le 6-12-33, nous avons ensemencé dans du bouillon-sérum les deux souches de streptocoques gourmeux « Provins » et « Eponge » (conservées au laboratoire en ampoules scellées). Après 24 heures d'étuve, nous avons prélevé deux gouttes de chacune de ces cultures et nous les avons réensemencées respectivement dans des tubes contenant une même quantité de bouillon-MARTIN additionné de sérum normal et dans des tubes contenant une même quantité de

bouillon-MARTIN additionné de sérum « Salmette » (à raison de un tiers de sérum pour deux tiers de bouillon-MARTIN).

Le 8-12-33, nous avonsensemencé aseptiquement chacune des cultures ainsi obtenues, à raison de 1 cc. pour 9 cc. de gélose préalablement liquéfiée au bain-marie, puis ramenée à la température de 40°.

Nous avons ensuite étalé le tout aseptiquement en boîtes de PETRI, et porté celles-ci à l'étuve, après refroidissement.

Le 9-12-33, examen des boîtes, dénombrement des colonies.

« Eponge » (Bouillon Sérum Normal).....	26 colonies
« Eponge » (Bouillon Sérum Antigourmeux)....	28 colonies
« Provins » (B.S.N.).....	42 colonies
« Provins » (B.S.A.G.).....	41 colonies

Conclusions:

1° Il n'y a pas de différences entre le bouillon sérum normal et le bouillon sérum « Salmette ».

2° Le streptocoque « Provins » (qui était doué d'un fort pouvoir antigène vis-à-vis du sérum) a poussé plus abondamment que la souche « Eponge » (douée d'un pouvoir antigène plus faible).

II. SÉRUM « SALMETTE » (saignée du 2-1-34). A reçu dans la veine des streptocoques alcool-éther et une culture vivante « Suippes ».

Réaction de déviation du 6-1-34, avec le streptocoque « Suippes » comme antigène:

100 unités.

III. SÉRUM « SALMETTE » (saignée du 19-2-34). A reçu dans la veine des streptocoques alcool-éther et deux cultures vivantes (streptocoque « Dinan » et streptocoque « Provins »).

Réaction de déviation du 20-2-34:

1° Streptocoque « Dinan ».....	10 unités
2° Streptocoque « Provins ».....	15 unités

Le 22-2-34, culture, suivant la même technique (celle utilisée dans les expériences du 6-12-33) des souches suivantes:

1° « Suippes »	$\left\{ \begin{array}{l} \text{sur bouillon-sérum normal....} \\ \text{sur bouillon-sérum « Salmette »} \end{array} \right\}$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{saignée} \\ \text{du} \\ 2/1/34 \end{array} \right\}$
2° « Dinan ».	$\left\{ \begin{array}{l} \text{sur bouillon-sérum normal....} \\ \text{sur bouillon-sérum « Salmette »} \end{array} \right\}$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{saignée} \\ \text{du} \\ 19/2/34 \end{array} \right\}$
3° « Provins »	$\left\{ \begin{array}{l} \text{sur bouillon-sérum normal....} \\ \text{sur bouillon-sérum « Salmette »} \end{array} \right\}$	

Le 23-2-34, la culture de « Provins » est nettement plus abondante dans le tube de bouillon-sérum anti que dans le tube de bouillon-sérum normal.

Ensemencement, comme dans l'expérience précédente, suivant la même technique, de 1 cc. des cultures dans 9 cc. de gélose sur boîtes de PETRI. Mise à l'étuve des six boîtes.

Le 24-2-34, dénombrement des colonies:

« Dinan » (B.S.N.)	90
« Dinan » (B.S.A.G.)	150
« Provins » (B.S.N.)	86
« Provins » (B.S.A.G.)	110
« Suippes » (B.S.N.)	70
« Suippes » (B.S.A.G.)	100

CONCLUSIONS

1° Les trois souches poussent plus abondamment dans le bouillon additionné de sérum antigourmeux que dans le bouillon auquel on a ajouté du sérum normal.

2° Pas de relation entre le pouvoir antigène des souches et leur développement dans le bouillon-sérum anti.

IV. SÉRUM « SALMETTE » (saignée du 26-3-34). A reçu dans la veine des streptocoques alcool-éther et une culture vivante des streptocoques « 11 », « 14 » et « 21 ».

SÉRUM « DACTYLO » (saignée du 26-3-34). A reçu dans la veine des streptocoques alcool-éther et une culture de streptocoque « 17 » (tué par la chaleur).

Sérum « Salmette » : Streptocoque « 11 ».....	10 unités
Streptocoque « 14 ».....	20 unités
Streptocoque « 21 ».....	10 unités
Sérum « Dactylo » : Streptocoque « 17 ».....	10 unités

Le 4-5-34, les quatre souches sont ensemencées sur bouillon-sérum normal; trois (11, 14, 21) sur bouillon-sérum « Salmette », une (17) sur bouillon-sérum « Dactylo ».

Le 5-5-34, les cultures sont également nettes dans les huit tubes. Ensemencement suivant la technique des précédentes expériences de un centimètre cube des cultures dans neuf centimètres cubes de gélose, sur boîtes de PETRI; mise à l'étuve des huit boîtes.

Le 6-5-34, dénombrement des colonies:

« 11 » B. S. N.	200
« 11 » B. S. A. G.	125
« 14 » B. S. N.	80
« 14 » B. S. A. G.....	115
« 21 » B. S.N.	115
« 21 » B. S. A. G.....	145
« 17 » B. S. N.	100
« 17 » B. S. A. G.....	125

CONCLUSIONS

1° Trois souches poussent plus abondamment dans du bouillon-sérum antigourmeux que dans du bouillon-sérum normal. Une seule souche a donné un résultat inverse.

2° Pas de relations entre le pouvoir antigène des souches et leur développement dans le sérum anti.

V. *Le 31-5-34*, comparativement aux expériences précédentes, toujours suivant la même technique, nous avons cultivé sur le même bouillon-sérum antigourmeux « Salmette » d'autres souches de streptocoques gourmeux n'ayant pas servi à sa production. Nous avons ensemencé dans du bouillon-sérum deux souches de streptocoques gourmeux (« 7 » et « 8 »),

conservées au laboratoire en ampoules scellées. Après 24 heures d'étuve, nous avons prélevé deux gouttes de chacune de ces cultures et nous les avons réensemencées respectivement dans des tubes contenant une même quantité de bouillon-MARTIN additionné de sérum normal, et dans des tubes contenant une même quantité de sérum anti (sérum « Salmette » utilisé pour les expériences précédentes; un tiers pour deux tiers de bouillon).

Le 2-6-34, l'examen des cultures ne nous révèle rien de spécial. Nous ensemençons aseptiquement chacune des cultures à raison de 1 cc. pour 9 cc. de gélose sur boîtes de PÉTRI. Mise à l'étuve des boîtes.

Le 3-6-34, examen des boîtes de PÉTRI et dénombrement des colonies.

« 7 »	B. S. N.	100
« 7 »	B. S. A. G.	50
« 8 »	B. S. N.	90
« 8 »	B. S. A. G.	50

CONCLUSIONS

1° Les deux souches poussent plus abondamment en bouillon-sérum normal qu'en bouillon-sérum anti.

2° Les deux souches, qui n'ont pas servi à la production de ce sérum anti s'y sont développées assez difficilement.

Conclusions générales de ces expériences

1° Dans la majorité des cas, le streptocoque gourmeux se développe mieux sur bouillon-sérum anti-gourmeux spécifique que sur bouillon-sérum normal.

2° Il n'y a pas de relations entre le pouvoir antigène des souches et leur développement en sérum anti.

3° Il semble qu'il y ait spécificité dans le développement plus considérable des germes.

Les souches ayant servi à produire le sérum anti s'y sont mieux développées que les autres souches.

Deuxième série d'expériences

On sait depuis longtemps que le bacille de PREISZ-NOCARD est très voisin du bacille diphtérique, au point de vue morphologique et cultural, mais il semble bien démontré que les toxines des deux bacilles ont des propriétés différentes.

Toutefois, le sérum antidiphtérique a été essayé comme moyen curatif dans les maladies des animaux dues au PREISZ-NOCARD.

En 1901, NOCARD donna aux éleveurs irlandais le conseil de traiter leurs veaux atteints de « lung-disease » par le sérum antidiphtérique.

En 1905, DASSONVILLE, qui fit une magistrale étude de la toxine du PREISZ-NOCARD, fit les expériences suivantes:

« 1° des cobayes reçoivent sous la peau 1 cc. de toxines de bacilles de PREISZ-NOCARD (dose sûrement mortelle), préalablement mélangée *in vitro* à des doses variées de sérum antidiphtérique.

« 2° Des cobayes reçoivent ce sérum sous la peau, puis 48 heures après, une dose mortelle de toxine.

« 3° Des cobayes reçoivent en même temps du sérum (sous la peau d'une cuisse) et de la toxine (sous la peau de l'autre cuisse).

« 4° Des cobayes reçoivent une dose mortelle de toxine, puis, à titre curatif, de 2 heures en 2 heures, du sérum.

« Tous les témoins et les cobayes ayant reçu un centième de centimètre cube de sérum antidiphtérique meurent en 24 heures. Ceux qui ont reçu un dixième de sérum sont malades pendant quelques jours. Enfin ceux ayant reçu un centimètre cube de sérum ne manifestent aucun trouble. Tous ces cobayes cependant succombèrent en l'espace de 42 à 60 jours, sauf quelques-uns de ceux ayant reçu le sérum à titre curatif (quatrième expérience). »

DASSONVILLE conclut: « le sérum antidiphtérique paralyse l'action de la toxine du bacille de PREISZ-NOCARD; il en retarde considérablement les effets, parfois d'une façon indéfinie ».

NICOLLE, LOISEAU et FORGEOT (1912) ont constaté l'inefficacité absolue du sérum antidiphthérique contre la toxine du bacille de PREISZ-NOCARD, les bacilles toxiques ou atoxiques.

HAAN et AUGER (1917) ont utilisé sans succès le sérum antidiphthérique pour traiter des chevaux lymphangiteux.

MAILLAND (1930) a traité 8 chevaux malades par des injections sous-cutanées répétées de 200 à 250 cc. de sérum antidiphthérique, 4 d'entre eux guérissent; l'état des 4 autres ne fut pas amélioré. Ces résultats ne sauraient surprendre, car même des sérums spécifiques, quoique antitoxiques, n'ont aucune action sur la virulence même du bacille de PREISZ-NOCARD.

En 1934, G. GUILLOT a confirmé les expériences de DASSONVILLE, en pratiquant les suivantes:

1° Mélange « *in vitro* » de toxine de bacilles de PREISZ-NOCARD et de sérum antidiphthérique ou de sérum normal:

Des cobayes reçoivent sous la peau:

- a) 1 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique = survie
1 cc. toxine + 0 cc. 1 sérum antidiphthérique + 36 heures
1 cc. toxine (témoin)..... + 24 heures
- b) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique = survie
2 cc. toxine + 0 cc. 1 sérum antidiphthérique + 41 heures
2 cc. toxine + 1 cc. sérum normal + 23 heures
2 cc. toxine (témoin)..... + 19 heures
- c) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique + 35 jours
2 cc. (témoin)..... + 22 heures
- d) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique = survie
2 cc. toxine + 0 cc. 5 sérum antidiphthérique + 83 jours
2 cc. toxine + 0 cc. 5 sérum normal + 28 heures
2 cc. toxine (témoin) + 23 heures
- e) 2 cc. toxine + 1 cc. sérum antidiphthérique + 3 mois
2 cc. toxine + 1 cc. sérum normal..... + 36 heures
2 cc. toxine (témoin) + 12 heures

2° Le sérum antidiphthérique est injecté 48 ou 24 heures avant la toxine ou simultanément.

- a) un cobaye reçoit 2 cc. de sérum antidiphthérique, puis 48 heures après 1 cc. toxine..... + 48 heures

- b) un cobaye reçoit 2 cc. de sérum normal, puis 48 heures après 1 cc. de toxine..... + 24 heures
un cobaye reçoit 1 cc. toxine (témoin).. + 24 heures
- c) un cobaye reçoit 2 cc. sérum antidiphthérique, puis 48 heures après 1 cc. toxine..... + 17 jours
un cobaye reçoit 2 cc. sérum antidiphthérique + survie
un cobaye reçoit 1 cc. toxine (témoin)... + 12 heures
- d) un cobaye reçoit 2 cc. sérum antidiphthérique et en même temps 2 cc. toxine..... + 10 jours
un cobaye reçoit 2 cc. de sérum antidiphthérique, puis 48 heures après 2 cc. toxine..... + 12 jours
un cobaye reçoit 2 cc. de sérum normal, puis 48 heures après 2 cc. toxine..... + 3 jours
un cobaye reçoit 2 cc. toxine (témoin)... + 2 jours 1/2
- e) un cobaye reçoit 2 cc. sérum antidiphthérique, puis 24 heures après 1/10 cc. toxine..... + 5 jours
un cobaye reçoit 2 cc. sérum normal, puis 24 heures après 1/10 cc. toxine..... + 36 heures
un cobaye reçoit 1/10 cc. de toxine..... + 24 heures
- f) un cobaye reçoit 1 cc. 5 de sérum antidiphthérique, puis 24 heures après 1/10 cc. toxine..... + 3 jours
un cobaye reçoit 1/10 cc. toxine..... + 3 jours
un cobaye reçoit 1/10 cc. toxine..... + 36 heures

G. GUILLOT conclut:

« Dans 3 expériences sur 5, le sérum antidiphthérique, à la dose de 1 cc., a inactivé une dose mortelle de toxine; dans les 2 autres cas, il l'a considérablement atténuée. Dans un seul cas sur cinq, ce sérum a pu protéger efficacement le cobaye contre une dose mortelle de toxine, injectée soit 48 heures, 24 heures après, ou simultanément. Dans les autres cas, il retarde la mort. Dans aucune expérience, le sérum normal n'a empêché l'action de la toxine (mort retardée seulement de quelques heures)... »

G. GUILLOT aensemencé le bacille de PREISZ-NOCARD dans du bouillon-MARTIN additionné de sérum antitoxique, provenant de chevaux atteints de lymphangite ulcéreuse. Il a constaté, sur ce milieu, un développement des bacilles plus abondant qu'en bouillon-sérum normal, mais il n'a pu apprécier de différence de végétation entre le premier milieu et le bouillon-MARTIN ordinaire.

EXPERIENCES PERSONNELLES

Nous avons cherché à nous rendre compte si l'addition de sérum antidiphtérique au bouillon-MARTIN avait une action favorisante sur l'activité de la toxine du bacille de PREISZ-NOCARD cultivé sur ce milieu. Voici le détail de nos expériences:

I. Le 17-11-33, ensemencement en flacons d'ERLENMEYER contenant:

- l'un 100 cc. de bouillon-MARTIN;
- le deuxième 75 cc. de bouillon-MARTIN, plus 25 cc. de sérum normal de cheval;
- le troisième 75 cc. de bouillon-MARTIN, plus 25 cc. de sérum antidiphtérique d'une souche de bacilles de PREISZ-NOCARD (« Thandarée »).

Le 25-11-33, filtration sur bougie CHAMBERLAND L3 après 8 jours d'étuve (sous un vide de 20 cm. de mercure).

Le filtrat est injecté sous la peau de cobayes de 500 à 600 grammes.

1/4 cc. —	Toxine B. M.	résiste
	Toxine B. S. A. D.	résiste
	Toxine B. S. N.	résiste
1/2 cc. —	Toxine B. M.	résiste
	Toxine B. S. A. D.	résiste
	Toxine B. S. N.	+ en 8 jours
1 cc. —	Toxine B. M.	+ en 8 jours
	Toxine B. S. A. D.	+ en 6 jours
	Toxine B. S. N.	résiste
3 cc. —	Toxine B. M.	+ 24 heures
	Toxine B. S. A. D.	+ 24 heures
	Toxine B. S. N.	+ en 4 jours

Conclusion:

La toxine du bacille de PREISZ-NOCARD cultivé sur bouillon-sérum antidiphtérique est plus active pour le cobaye que celle préparée sur bouillon-MARTIN ordinaire, et surtout sur celle en bouillon-sérum normal.

II. Une toxine, préparée comme précédemment avec la même souche de bacille de PREISZ-NOCARD, est inoculée le 23-12-33.

1 cc. —	Toxine B. M.	+ en 8 jours
	Toxine B. S. A. D.	+ en 9 jours
	Toxine B. S. N.	+ en 8 jours
2 cc. —	Toxine B. M.	+ en 8 jours
	Toxine B. S. A. D.	+ en 8 jours
	Toxine B. S. N.	+ en 5 jours

Conclusion:

La toxine préparée en bouillon-sérum normal est plus active que celle préparée en bouillon-sérum antidiphthérique.

III. La souche du bacille de PREISZ-NOCARD « Thandarée » est inoculée dans le péritoine d'un cobaye mâle (0 cc. 5 d'une émulsion d'une öse de voile de PREISZ-NOCARD prélevé sur une culture en bouillon, dans 4 centimètres cubes d'eau physiologique). Au sixième jour, orchite; du pus est prélevé aseptiquement etensemencé; il donne une culture pure de bacille de PREISZ-NOCARD. Ce bacille est réensemencé dans des flacons d'ERLENMEYER, comme précédemment. (Par suite d'une cause matérielle n'ayant pas permis de pratiquer le vide au huitième jour, la filtration n'a pu avoir lieu qu'après 10 jours de culture.)

Le 5-3-34, injections à des cobayes.

1 cc. —	Toxine B. M.	+ en 10 jours
	Toxine B. S. A. D.	résiste
2 cc. —	Toxine B. M.	+ en 5 jours
	Toxine B. S. A. D.	+ en 9 jours
	Toxine B. S. N.	+ en 3 jours

Conclusion:

La toxine préparée en bouillon-sérum normal est nettement plus active que celle préparée en bouillon-sérum antidiphthérique.

IV. Le même jour (5-3-34), avec la toxine de la souche « Lyon ».

1 cc. —	Toxine B. M.	résiste
	Toxine B. S. A. D.	+ en 11 jours
	Toxine B. S. N.	+ en 5 jours
2 cc. —	Toxine B. M.	résiste
	Toxine B. S. A. D.	+ en 8 jours
	Toxine B. S. N.	+ en 5 jours

Conclusion:

La toxine de la souche « Lyon », préparée en bouillon-sérum normal est particulièrement active.

La toxine préparée en bouillon-sérum antidiphthérique est moins active que la précédente, mais plus que celle préparée sur bouillon-MARTIN ordinaire.

CONCLUSION GENERALE

1° Nous pouvons classer, par ordre de toxicité décroissante, les milieux de culture ayant servi à préparer la toxine du bacille de PREISZ-NOCARD, de la manière suivante:

1. bouillon-sérum normal;
2. bouillon-sérum antidiphthérique;
3. bouillon-MARTIN ordinaire.

2° Contrairement à ce que nous espérions, surtout après notre première série d'expériences, nous n'avons pas obtenu de toxine plus active par culture de bacille de PREISZ-NOCARD sur bouillon-sérum antidiphthérique.

CONCLUSIONS

I. — Il n'est pas possible de concilier les diverses théories concernant le rôle des humeurs dans l'immunité contre les microbes, mais on ne peut douter de l'efficacité des réactions humorales dans la défense contre les microbes, quel que soit le mécanisme de celle-ci.

II. — Dans nos expériences, l'addition au bouillon de culture usuel de sérum antimicrobien spécifique d'un microbe pathogène (streptocoque gourmeux) a nettement favorisé la culture du microbe spécifique. Le développement était visiblement inférieur quand le sérum ajouté au bouillon ordinaire était du sérum normal de cheval.

III. — Les souches de streptocoques gourmeux ayant servi à produire le sérum antigourmeux s'y développent mieux que les autres souches. Il y a donc spécificité dans le développement plus considérable des germes.

IV. — Il n'y a pas de relations entre le pouvoir antigène des streptocoques gourmeux et leur développement en sérum antigourmeux.

V. — La toxicité du bacille de PREISZ NOCARD n'est pas accrue par culture du bacille sur bouillon additionné de sérum antidiphtérique.

Vu :

LE DOYEN,
ROUSSY.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE.
LEMIERRE.

Vu et permis de l'Académie :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE,
S. CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- AMAKO. — Über den Einfluss des Immunserums auf die Lebenserscheinungen der Bakterien. *Zentralblatt für Bakteriologie* (origin.), vol. 116, livre 6/8, p. 506-515, 15 mai 1930.
- BESREDKA (A.). — Le sérum antistreptococcique et son mode d'action. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVIII, 1904, p. 363.
- BORDET (J.) et GENGOU (O.). — Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XV, 1901, p. 289.
- BRIDRE (J.) et JOUAN (C.). — Action du sérum spécifique sur le rouget des porcs. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1914, t. LXXVII, p. 541.
- BROCQ-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN (A.). — Etudes sur le streptocoque gourmeux. Unicité du streptocoque gourmeux. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXXVI, sept. 1922, p. 646.
- Le streptocoque gourmeux. *Revue de Pathologie comparée*, Paris, 1925.
- CARPENTIER (G.) et GUILLOT (G.). — Le séro-diagnostic par la réaction de Bordet-Gengou. *Revue Vétérinaire Militaire*, 1932, t. XVI, p. 188.
- DASSONVILLE. — Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse du cheval. Toxine du bacille de Preisz-Nocard. Discussion : Vallé, Basset, Even, Guérin, Dassonville. *Bull. Soc. Centre Méd. Vét.*, vol. LXI, déc. 1907, p. 576.
- FORGEOT (P.). — Bacille de Preisz-Nocard et bacille de Klebs-Löffler. *Bull. Acad. Vét. de France*, t. III, oct. 1930, p. 379.
- GORET (P.). — Du rôle des humeurs dans l'immunité. Culture des microbes pathogènes sur les sérums normaux et sur les sérums immunisants. *Thèse de D^t Vétér.*, Paris, 1931.
- GUILLOT (G.). — Etude du bacille de Preisz-Nocard. *Thèse de D^t Vétér.*, Paris, 1934.
- HAAN et AUGER. — Contribution à l'étude des lymphangites du cheval. *Revue Génér. de Méd. Vétér.*, t. XXVI, 15 oct. 1927, p. 469.

- LE BOURDELLÈS et SEDALLIAN. — *Précis d'Immunologie*. Doin et C^{ie}, édit., Paris, 1930.
- MAILLAND (R.). — Contribution à l'étude de la lymphangite ulcéreuse. Observations recueillies au cours d'une épizootie. *Thèse D^t Vétér.*, Paris, 1930.
- MESNIL (F.). — Sur le mode d'action du sérum préventif contre le rouget du porc. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XII, 1898, p. 481.
- NICOLLE (M.) et BOQUET (A.). — *Eléments de microbiologie générale et d'immunologie* (2^e édition, 1926, Paris, Doin, édit.).
- NICOLLE (M.) et CÉSARI. — Influence des immun-sérums spécifiques sur la culture des microbes pathogènes. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1926, p. 43.
- NICOLLE, CÉSARI et DEBAINS. — Etude sur la précipitation mutuelle des antigènes et des anticorps. *Premier mémoire: Sérums antisérums*. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXXIV, 1920, n^o 3, p. 149.
- NICOLLE (M.), FRASEY, DEBAINS et NICOLAS. — Recherches sur la préparation des sérums antimicrobiens et antitoxiques chez le cheval (premier mémoire). *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXXIV, 1920, n^o 5, p. 285.
- NICOLLE (M.), LOISEAU (G.) et FORGEOT (P.). — Les facteurs de toxicité des bactéries (2^e Mémoire, Etude des bacilles de Preisz-Nocard). *Ann. Instiut Pasteur*, t. XXVI, 1912, p. 83.
- URBAIN (A.). — La réaction de fixation appliquée au diagnostic de certaines maladies microbiennes ou parasitaires communes à l'homme et aux animaux. *Thèse de D^t Vétér.*, Paris, 1927.
- VALLÉ (H.). — Sur le traitement de la lymphangite ulcéreuse par le sérum antidiphthérique. *Bull. Soc. Centr. de Méd. Vét.*, t. LXI, 1907, p. 181.
- VOGES et SCHUTZ. — *Deutsch medizine Wochenschrift*, 27 janv. 1898.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	7
PREMIÈRE PARTIE. — Culture des microbes pathogènes sur les anti-sérums	11
DEUXIÈME PARTIE. — Résultats généraux : Augmentation des corps microbiens de la culture en bouillon sérum- anti. Hypothèses sur les causes du phénomène.....	19
TROISIÈME PARTIE. — Expériences personnelles.....	23
<i>Première série d'expériences</i>	23
Principe de la réaction de Bordet-Gengou.....	24
Technique de la réaction par le procédé de Bes- redka	25
Antigène	30
Expériences	31
Conclusions générales.....	35
<i>Deuxième série d'expériences</i>	36
Historique	36
Expériences personnelles	39
Conclusion générale.....	41
CONCLUSIONS	43
BIBLIOGRAPHIE	45



IMPRIMERIE SPÉCIALE
DE
MM. VIGOT Frères



